

大果榉种质引种北京的抗寒性鉴定

陈 博¹,夏振平¹,马 喆²,邹东¹

(1. 北京农业职业学院 园艺系, 北京 102442; 2. 北京农业职业学院 实训管理中心, 北京 102442)

摘要:为丰富北京冬季植物景观,引种栽培大果榉。以五年生大果榉植物的3份种质叶片为试验材料,采用电导法配合 Logistic 方程确定其低温半致死温度(LT₅₀),鉴定不同种质大果榉生长期的抗寒性。结果表明:随着处理温度的降低,大果榉叶片的电解质渗出率均呈上升趋势;供试大果榉种质间的抗寒性差异较大,06-02 叶片的 LT₅₀ 为 6.91 ℃、06-03 叶片的 LT₅₀ 为 -5.83 ℃、06-04 叶片的 LT₅₀ 为 -4.39 ℃,3 份种质抗寒性强弱顺序为 06-03>06-04>06-02;生长期的大果榉 06-03 和 06-04 能够适应北京的低温环境,而 06-02 在引种栽培中应采取早期防寒措施。

关键词:大果榉;电解质渗出率;半致死温度;抗寒性

中图分类号:S792.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2018)01-0086-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2018.01.0086

大果榉(*Zelkova sinica*)别名小叶榉,是我国特有树种,主要分布在山西南部、河南南部、湖北西部、陕西南部、甘肃、四川等地^[1]。大果榉树形优美,冠幅大,且秋色叶褐红色、树皮脱落部位呈黄色,具有独特的观赏价值,是良好的园林景观树种。北方城市冬季温度较低,在一定程度上限制了园林绿化建设的步伐。为了提升北京城市生态建设水平,服务 2019 年世园会和 2022 年的冬奥会,北京市园林绿化局启动了“北京园林绿化增彩延绿科技创新工程”,以拉动优良植物品种的培育、应用和推广,在此背景下将珍稀树种大果榉引种到北京。

大果榉是喜温树种,春季萌动后抗寒能力下降^[2-3],因而秋末冬初休眠前以及早春时期大果榉对北京低温的适应情况,是引种成功与否的关键,故采取科学的方法鉴定其生长期的抗寒能力是非常必要的。电导法是测量植物抗寒性的有效方法,通过测定经低温处理后植物离体组织细胞内电解质的渗出量而间接鉴定植物抗寒能力的高低^[4-5],1930 年,Dexter 等人首次提出用电导法研究植物的抗寒性^[6],之后此试验方法不断被改进,广泛应用于植物生理抗性的研究中。该试验对 3

份大果榉种质开展人工低温胁迫从而测定出其电解质渗出率,应用 Logistic 方程计算出半致死温度,鉴定其抗寒性,旨在为大果榉成功引种栽培于北京地区以及抗寒性选育提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为 2017 年 4 月引自山西省太谷县的大果榉五年生实生植株,栽植于北京农业职业学院彩林园,种质分别为 06-02、06-03 和 06-04。于 2017 年 7 月 5 日从树体上采集当年生的枝叶若干,其在树冠上的生长部位与方向尽可能保持一致。

1.2 方法

1.2.1 材料预处理和低温处理 用自来水冲洗剪下的叶片 3 次,除去粘于表面的泥土和污物,再用去离子水冲洗叶片 1 次,并用滤纸将叶表面的水分吸干,每份种质设 5 个处理,分别装于独立的自封袋中,并贴好标签。采用梯度降温法,在程控式冷藏冷冻箱中对不同种质进行低温处理,每个处理有 1 份参试的种质叶片,以 5 ℃为对照温度,设定的处理温度分别为 5(CK)、0、-5、-10 和 -15 ℃,冷冻处理 24 h,进行电解质渗出率的测定。

1.2.2 电解质渗出率测定方法 将低温处理好的材料放于 5 ℃的冰箱中解冻 24 h,之后将叶片切成 0.5 cm 见方的叶块,取其中 16 块置于规格为 20 mm×200 mm 的试管中,并加入 20 mL 去

收稿日期:2017-09-19

基金项目:北京农业职业学院博士基金资助项目(XY-YF-17-05)

第一作者简介:陈博(1983-),女,吉林省大安市人,博士,讲师,从事园林植物育种、森林生态研究。E-mail:335859230@qq.com。

离子水,用保鲜膜将瓶口封好,每份种质的每个处理分别有 3 个重复,然后在 25 ℃下静置 12 h^[7]。电解质渗出量(C_1)为浸出液的电导值,此数值用 EC-215 型便携式台式电导仪测定;将试管放入 80 ℃的水浴中加热 20 min,使组织被杀死,之后在 25 ℃下浸提 20 h,再测定其电导值,此数值代表所处理材料的原生质膜遭到破坏后电解质的全部外渗量,用 C_2 表示。电解质渗出率 = $C_1/C_2 \times 100\%$ 。

1.2.3 确定低温半致死温度(LT_{50}) 电解质渗出率结合 Logistic 曲线方程进行拟合^[8-10]。Logistic 方程是一种典型的“S”型曲线方程。

$$Y=K/(1+ae^{-bx})$$
$$K=[y_2^2(y_1+y_3)-2y_1y_2y_3]/(y_2^2-y_1y_3)$$

表 1 不同种质大果榛叶片在不同温度下电解质渗出率

| 种质 Germplasm | 电解质渗出率/% Electrical permeation rate | | | | |
|-----------------|-------------------------------------|--------------|--------------|---------------|--------------|
| | 5 ℃ | 0 ℃ | -5 ℃ | -10 ℃ | -15 ℃ |
| 06-02 | 45.82±4.51 a | 54.52±3.54 a | 68.65±1.66 a | 72.08±3.48 b | 74.52±2.80 a |
| 06-03 | 35.52±7.25 b | 40.35±3.70 b | 56.52±1.02 b | 74.30±2.06 ab | 81.00±0.93 b |
| 06-04 | 28.04±1.79 b | 39.00±3.23 b | 56.44±2.57 b | 75.24±5.36 a | 79.76±1.60 b |

数据为均值±标准差,同列小写字母不同表示达到 $P\leq 0.05$ 水平差异显著。下同。
Data are the mean ± standard deviation,different lowercase within the same column mean significant difference at 0.05 level. The same below.

由图 1 可知,随着温度的降低,不同种质大果榛叶片的电解质渗出率变化趋势大体一致。低温处理初期电解质渗出率上升相对缓慢,表明此温度阶段离子渗透差异小,低温对细胞膜的影响不

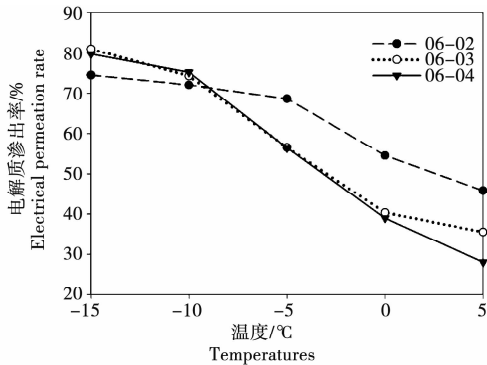


图 1 不同种质大果榛叶片在不同温度下电解质渗出率变化趋势

Fig.1 The electrical permeation rate trend of *Zelkova sinica*'s leaves at different temperatures

其中, x 为处理温度, y_1,y_2,y_3 分别是 3 个等距处理温度下的电解质渗出率,对此方程求二阶导数,并令其等于零,即可得到曲线的拐点 $X(X=\ln a/b)$,并以 X 为冰冻半致死温度(LT_{50})来反映植物的抗寒力,即 $LT_{50}=X=\ln a/b$ 。

1.2.4 数据分析 采用 SigmaPlot10.0 软件绘制电解质渗出率与各处理低温温度间的关系曲线。利用 SPSS21.0 统计软件进行 LSD 多重比较和回归分析。

2 结果与分析

2.1 处理温度与大果榛叶片电解质渗出率的关系

由表 1 可知,不同种质大果榛叶片经低温处理后,电解质渗出率均随着温度的降低而出现上升的趋势,即电解质渗出率与温度变化成反比。

大^[10];然后在一定低温范围内急剧升高,表明离体组织受到伤害加重,膜透性遭到破坏;随后又趋于缓慢,说明在此时植物细胞已受到严重伤害,细胞内的电解质大量外渗。电解质渗出率随着温度的下降呈 S 型上升的曲线变化。

2.2 低温处理后不同种质大果榛叶片电解质渗出率的差异

对同一温度处理下不同种质的大果榛叶片电解质渗出率进行 LSD 多重比较(见表 1),结果显示,5、0、-5 和 -15 ℃下 06-02 叶片电解质渗出率显著高于 06-03 和 06-04;-10 ℃下 06-02 与 06-03 差异不显著,而与 06-04 差异显著;不同低温处理下,06-03 与 06-04 叶片电解质渗出率差异均不显著。当温度由 5 ℃降至 -15 ℃时,06-03 和 06-04 的电解质渗出率分别增加了 45.48 和 51.72 百分点。

不同种质的大果榛叶片经低温处理后,电解

质渗出率快速增加的温度范围因类型不同而异。图 1 显示 06-03 大果榉叶片电解质渗出率随着温度下降的 S 型曲线最为典型;而 06-04 的 S 型曲线最不典型,低温处理初期(5℃降至 0℃)电解质渗出率上升并不平缓,可能的原因为温度梯度差过大或拐点温度未在温度梯度中间位置,影响了精确度^[3,11-12]。对大果榉叶片在不同低温处理下电解质渗出率进行 LSD 多重比较(见表 2)发现,不同种质大果榉叶片在 0℃和-5℃处理下

电解质渗出率均表现为显著差异,06-03 和 06-04 在-5℃和-10℃处理下电解质渗出率也表现为显著差异,而 06-02 在-5℃和-10℃处理下的电解质渗出率差异不显著;06-03 在 5℃和 0℃处理下电解质渗出率差异不显著,而 06-02 和 06-04 在 5℃和 0℃处理下电解质渗出率均差异显著。研究结果表明,06-02 叶片在 5℃至-5℃间变化幅度较大,06-03 叶片在 0℃至-10℃间变化幅度较大,06-04 叶片在 5℃至-10℃间变化幅度较大。综合推断出 3 个种质大果榉抗寒性强弱顺序依次为 06-03>06-04>06-02。

2.3 不同种质大果榉叶片的半致死温度分析

非线性回归分析结合 Logistic 方程拟合出温度拐点,此拐点温度即为大果榉种质叶片的半致死温度LT₅₀(见表 3)。所有 Logistic 方程的拟合度 R²均高于 0.900,呈显著水平,可表明拟合结果可靠。在人工低温处理的试验方法下,供试材料 06-02、06-03 和 06-04 的 LT₅₀ 分别为 6.91、-5.83和-4.39℃。从 LT₅₀的结果来看,抗寒性强弱顺序依次为 06-03>06-04>06-02,该结果与温度梯度法得出的结果一致。

表 2 不同低温处理下大果榉叶片电解质渗出率

Table 2 The electrical permeation rate of *Zelkova sinica*'s leaves at different temperatures

| 温度/℃ Temperature | 电解质渗出率/% Electrical permeation rate | | |
|---------------------|-------------------------------------|----------|----------|
| | 06-02 | 06-03 | 06-04 |
| 5 | 45.82 e | 35.52 e | 28.04 e |
| 0 | 54.52 d | 40.35 de | 39.00 d |
| -5 | 68.65 c | 56.52 c | 56.44 c |
| -10 | 72.08 bc | 74.30 ab | 75.24 ab |
| -15 | 74.52 a | 81.00 a | 79.76 a |

表 3 不同种质大果榉叶片电解质渗出率的 Logistic 方程和半致死温度

Table 3 The logistic equation and lethal temperature (LT₅₀) of electrical permeation rate of *Zelkova sinica*'s leaves with different germplasms at different temperatures

| 种质 Germplasm | Logistic 方程 Logistic equation | 参数 Parameter | | | 拟合度 R ² Fitting degree | LT ₅₀ /℃ |
|-----------------|--------------------------------------|--------------|------|-------|--------------------------------------|---------------------|
| | | K | a | b | | |
| 06-02 | Y=78.79/(1+0.38e ^{0.14x}) | 78.79 | 0.38 | -0.14 | 0.977 | 6.91 |
| 06-03 | Y=119.01/(1+1.69e ^{0.09x}) | 119.01 | 1.69 | -0.09 | 0.974 | -5.83 |
| 06-04 | Y=106.12/(1+1.62e ^{0.11x}) | 106.12 | 1.62 | -0.11 | 0.987 | -4.39 |

3 结论与讨论

植物组织受低温胁迫时,细胞膜透性增加,轻度伤害后,膜的透性尚可恢复,高于临界温度时对膜结构的破坏严重,电解质大量外渗^[9]。电解质渗出率越高,表明受到的低温伤害越重,其抗寒性越弱^[13]。因此,可以利用低温胁迫后电解质渗出率的变化情况来比较和鉴定植物的抗寒能力。电导法配合 Logistic 方程计算材料的半致死温度,进而比较鉴定植物的抗寒性简便且可靠性高,已在多种植物材料上广泛应用^[14-16]。利用电导法测定 LT₅₀时,必须先了解供试种质 LT₅₀大概存在的范围,作为适宜的温度梯度选择的依据,使供试种质的低温半致死温度尽量落在处理的一系列梯

度温度的中部区域,从而获得比较规则的“S”型曲线,能够减小误差^[15]。

由于当年生的枝比叶片抗寒性强^[6,17],植株在休眠期比生长期抗寒性强,因而可以推断出冬季大果榉植株的半致死温度低于叶片半致死温度。通过网上查询北京 2012-2016 年近五年的天气情况可知:北京 11 月份前半月植物即将进入休眠时的最低温度为-4℃,3 月份后半月植物开始展叶期的最低温度为-2℃^[18],均高于 06-03 和 06-04 叶片半致死温度(-5.83 和-4.39℃),低于 06-02 叶片半致死温度(6.91℃)。此分析表明生长期的大果榉 06-03 和 06-04 能够适应北京的低温环境,而 06-02 在引种栽培中应采取早

期防寒措施。另外,为了解不同种质大果榉在北京冬季的抗寒适应性,需要对大果榉休眠期的枝条采样开展进一步研究。

本文研究是在人为低温胁迫下植物离体叶片的抗寒性,但是植物的抗寒性实际上会受到其内部因素(如自身发育状况)和多种外界环境因子的共同影响,因而温度之外的其它因素必然会对植物的抗寒性产生作用,如北京地区,植物在冬季还会受到多风、干旱等因素的影响,同时栽培条件和管理水平也会影响植物的抗寒情况。今后关于大果榉抗寒性机理的研究仍需深入进行,进而更深入地挖掘大果榉抗寒性强的种质资源。

参考文献:

- [1] 张若晨,陈莲芸,王良民. 珍稀乡土树种大果榉在国土绿化中的应用[J]. 山西林业科技, 2010, 39(1): 38-41.
- [2] 朱丽. 大果榉苗木越冬及抗寒生理特性研究[D]. 太谷:山西农业大学, 2014.
- [3] 田景花,王红霞,高仪,等. 核桃属 4 树种展叶期抗寒性鉴定[J]. 园艺学报, 2012, 39(12): 2439-2446.
- [4] 滕中华,周党卫,师生波,等. 亲藏高原三种植物的质膜透性变化与抗寒性的关系[J]. 中国草地, 2001(4): 37-40.
- [5] 赵世杰,刘华山,董新纯. 植物生理学试验指导[M]. 北京:中国农业出版社, 1998.
- [6] 卢芳,徐小梅. 徐州园林中 3 种常绿藤木的抗寒性测定[J]. 园林绿化, 2012(1): 50-52.

- [7] 陈爱葵,韩瑞宏,李东洋,等. 植物叶片相对电导率测定方法比较研究[J]. 广东教育学院学报, 2010, 30(5): 88-91.
- [8] 朱海根. 应用 Logistic 方程确定植物组织半致死温度的研究[J]. 南京农业大学学报, 1986(3): 11-16.
- [9] 高志红,章镇,韩振海. 果榉种质枝条抗寒性鉴定[J]. 果树学报, 2005, 22(6): 709-711.
- [10] 王永格,丛日晨. 常绿阔叶树种小果卫矛引种北京的抗寒性比较研究[J]. 园林科技, 2010(2): 8-9, 46.
- [11] 马玉. 北京地区樱花抗寒情况的初探[J]. 中国园林, 2001(2): 74-76.
- [12] 孙秉钧,黄礼森,李树玲,等. 利用电解质渗出率方法测定梨的耐寒性[J]. 中国果树, 1987(1): 15-18.
- [13] Lyons J M, Raison J K. Oxidative activity of mitochondria isolated from plant tissues sensitive and resistant to chilling injury [J]. Plant Physiol, 1970, 45: 386-389.
- [14] 王晓辉,郭启高,何桥,等. 电导法结合 Logistic 方程鉴定三倍体枇杷的抗寒性研究[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2012, 37(6): 121-124.
- [15] 赵明明,徐敏,周龙,等. 欧洲稠李休眠枝条抗寒性鉴定[J]. 新疆农业科学, 2014, 51(3): 437-443.
- [16] 黄永红,沈洪波,陈学森. 杏树抗寒生理研究初报[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2005, 36(2): 191-195.
- [17] 肖啸,张立彬,刘建珍,等. 不同低温处理对晚熟桃枝、叶、果电导率的影响[J]. 园艺学进展, 2004(6): 276-280.
- [18] 天气网[EB/OL]. [2017-08-26]. <http://lishi.tianqi.com/beijing>.

Evaluation on Cold Resistance of *Zelkova sinica* Germplasms Introduced to Beijing

CHEN Bo¹, XIA Zhen-ping¹, MA Zhe², ZOU Yuan-dong¹

(1. Department of Horticulture, Beijing Vocational College of Agriculture, Beijing 102442;
2. Practical Training Management Center, Beijing Vocational College of Agriculture, Beijing 102442)

Abstract: In order to enrich the plant landscape in Beijing in winter, to introduce and cultivate *Zelkova sinica*. With leaves of 3 germplasm resources of *Zelkova sinica* plants of five years old as test materials, the low temperature semilethal temperature (LT₅₀) of those leaves was estimated by electric conductivity method with Logistic equation, the cold resistance of different germplasms in *Zelkova sinica* growth period was identified. The results showed that with the decrease of temperature, the electrical permeation rate of *Zelkova sinica* leaves showed an upward trend; The difference of cold resistance between the *Zelkova sinica* germplasms was great, the LT₅₀ of 06-02 leaves was 6.91 °C, the LT₅₀ of 06-03 leaves was -5.83 °C, the LT₅₀ of 06-04 leaves was -4.39 °C, and the order of cold-resistance of 3 germplasms was 06-03 > 06-04 > 06-02. Moreover, 06-03 and 06-04 during growing period could adapt to the low temperature in Beijing, and 06-02 in the introduction and cultivation should take early cold precautions.

Keywords: *Zelkova sinica*; electrical permeation rate; semilethal low temperature (LT₅₀); cold-resistance